

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität München

Prof. Dr. med. Georg Heberer

Tierexperimentelle Untersuchungen mit Kunststoffen

am Röhrenknochen von Kaninchen.



Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Heiner Bauer

München

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München



1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. R. Bedacht
2. Berichterstatter. Prof. Dr. med. G. Heberer
Direktor der Chirurgischen Klinik
der Universität München
- Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 11.10.77

Einleitung	1
Allgemeiner Teil	2
1. Das Bindegewebe	
a) Das embryonale Bindegewebe	3
b) Das gallertige Bindegewebe	3
c) Das reticuläre Bindegewebe	3
d) Das faserige Bindegewebe	4
e) Das elastische Bindegewebe	5
2. Das Stützgewebe	5
a) Das Knorpelgewebe	5
b) Das Knochengewebe	5
1.) Der Bindegewebsknochen	6
2.) Der Ersatzknochen	7
3. Pathohistologie des Bindegewebes	8
Spezieller Teil	10
1. Versuchsanordnung	10
2. Materialbeschreibung	12
a) heterologer denaturierter Kollagenschwamm	12
b) heterologes denaturiertes Kollagenband	13
c) Mes-acton	14
3. Tabellen	15
4. Histologische Auswertung aller Versuchstiere	17
5. Diskussion der Fälle, die nicht ausgewertet werden konnten	20

6. Auswertung und Zusammenfassung der eigenen tierexperimentellen Untersuchungen unter Berücksichtigung der einschlägigen Literatur	27
Diskussion	30
Zusammenfassung	37
Literaturverzeichnis	39
Allgemeiner Teil	39
Spezieller Teil	40

Einleitung

Seit Jahren arbeitet man in der Dermatologie und in der plast. Chirurgie mit heterologem, denaturiertem Kollagen in Form von Folien mit großem Erfolg. Bedingt durch die immer steigende Zahl traumatisch bedingter Knochenbrüche und Knochenhöhlendefekte wollten wir in der hier vorgelegten tierexperimentellen Arbeit untersuchen, inwieweit heterologes denaturiertes Kollagen, welches von der Firma Braun in Melsungen in dankenswerter Weise in der von uns gewünschten Form und Verarbeitung zur Verfügung gestellt wurde, geeignet ist, bei der Behandlung von Frakturen und zur Auffüllung von Knochenhöhlen verwendet zu werden. Wir versuchten nun an Kaninchen, Frakturen zu stabilisieren und einzelne Bruchstücke zu fixieren. Dabei mußte sich erweisen, ob das verwendete Kollagenband genügend Festigkeit hatte, um es vielleicht mit der Drahtcerclage konkurrieren zu lassen. Wir prüften, in welcher Weise und in welcher Zeit das heterologe denaturierte Kollagenband vom Organismus weiterverarbeitet wird, und ob sich damit vielleicht ein Zweiteingriff, wie er normalerweise bei der Verwendung von körperfremden und nicht resorbierbarem Material zu dessen Entfernung wieder nötig ist, durch die Einbringung dieses Materiales vermeiden lässt. Anhand von histologischen Untersuchungen klärten wir die Frage, ob dieses Material eine osteogene Potenz oder wenigstens eine Art Leitschienenfunktion, wie sie von LONGMIRE postuliert wird auszuüben vermag.

Bei der Einbringung von fremdem Material muss man nun grundsätzlich mit drei Möglichkeiten rechnen.

1. Das implantierte Material wird in Zusammenhang mit einer mehr oder minder heftigen Fremdkörperreaktion abgestoßen.
2. Das Material wird abgekapselt und vom Körper resorbiert.
3. Das Material wird vom Organismus umgebaut und durch gleichartiges körpereigenes Material ersetzt.

Dazu muß man noch untersuchen, ob das Implantat etwa cancerogen ist oder eine Antigen-Antikörperreaktion hervorruft, die die Verwendung des Materials von vorne herein ausschliesst.

Daneben stellten wir Versuche an, ob sich heterologer denaturierter Kollagenschwamm, der aus Schweinehaut gewonnen wird, zur Implantation in die aseptische Knochenhöhle, wie wir sie z.B. nach Ausräumung einer benignen Knochenzyste oder nach Entnahme von autologer Spongiosa vorfinden, eignet. Wesentlich war auch hier wieder die Frage nach dem Ein-, Um- oder Abbau des implantierten Materials und die Frage, ob das Material in der Lage wäre eine stärkere und schnellere Knochenneubildung zu induzieren. Ziel dieser Untersuchungen war es, Aussagen über ein Material zu gewinnen, das geeignet sein könnte die autologe Spongiosäübertragung in ihrem Umfang einzuschränken oder vielleicht sogar nur auf die Verwendung im septischen Bereich zu beschränken, und das in immer ausreichender Menge und gleichbleibender Qualität zur Verfügung stünde.

Zum dritten stellten wir noch Versuche an bei denen wir neben dem bereits erwähnten heterologen denaturiertem Kollagenschwamm gleichzeitig auch noch Mes-acton in die Knochenhöhle applizierten. Mes-acton wird in der Klinik zur Aktivierung des reticulo-endothelialen Systems, zur Steigerung der unspezifischen Resistenz und als Ca-Zusatztherapie bei Alters- und Abnutzungserscheinungen verwendet. Es enthält Extrakte der Hydrolysate von folgenden Warmblüterorganen - glandula Thymi, Hepar und Splen. Wir versprachen uns davon eine günstige Beeinflussung der Osteoneogenese. Mit auf Grund der von uns gemachten experimentellen Untersuchungen konnte dann das heterologe denaturierte Kollagen auch in der Klinik als sog. Spongiosaplimbe mit Erfolg verwendet werden.

Die vorliegende tierexperimentelle Arbeit macht es erforderlich, auf einige ausgewählte Kapitel der allgemeinen und speziellen Histologie und Pathohistologie des Binde- und Stützgewebes näher einzugehen.

Allgemeiner Teil

Das Bindegewebe leitet sich vom Mesoderm und von der Neuralleiste ab. Es ist die Grundsubstanz aller Binde- und Stützgewebe, die sich dann jedoch auf Grund ihrer unterschiedlichen Interzellulärsubstanzen und den in den jeweiligen Geweben in unterschiedlicher

Zahl und Art vorkommenden Zellen unterscheiden. Das Stützgewebe finden wir überwiegend im Knorpel und Knochen des menschlichen Körpers, das Bindegewebe umhüllt die Organe, bildet deren Stroma und Kapsel. Spezielle Derivate des Bindegewebes finden sich im Dienste der körperlichen Abwehrkräfte.

1.) Das Bindegewebe

a) Das embryonale Bindegewebe (Mesenchym)

Es handelt sich hierbei um pluripotentes Gewebe, das Muttergewebe der Binde-, Fett- und Stützgewebe, aus dem sich auch noch Blut, Gefäße und fast die gesamte glatte Muskulatur bilden. Es ist ein reines Zellgewebe, das sich aber durch die Zellanordnung vom Epithelgewebe unterscheidet. Die Zellen des embryonalen Bindegewebes haben nach allen Richtungen Zellfortsätze durch die der Kontakt untereinander aufrecht erhalten wird. So entsteht ein räumliches Zellnetz mit zusammenhängenden zellfreien Maschenräumen. Diese werden von einer eiweißhaltigen, ungeformten Interzellulärsubstanz ausgefüllt.

b) Gallertiges Bindegewebe (Whartonsche Sulze)

Teils stern-, teils spindelförmige Zellen, die ein unregelmäßigeres Zellnetz ergeben. Die Maschenräume enthalten eine mucopolysaccharidhaltige, klebrige Gallerte, die reich an Hyaluronsäure ist. In der Interzellulärsubstanz finden wir auch Kollagen Fibrillen, die von Fibroblasten bzw. Fibrozyten erzeugt wurden.

c) Das reticuläre Bindegewebe

Hier finden wir große Zellen, die reich verzweigt sind und teils eng-, teils weitmaschige Netze bilden. Die Zellen sind differenziert, an ihren Oberflächen bilden sie sogenannte Reticullinfasern. Daneben bilden die Zellen des reticulären Bindegewebes eine Vielfalt an freien und beweglichen Zellen.

So finden wir das reticuläre Bindegewebe als Grundgewebe der blutbildenden Organe; des Knochenmarkes, der lymphatischen Gewebe in Lymphknoten und Milz. An freien Zellen erkennen wir Histiozyten und Phagozyten. Die Festigkeit des reticulären Bindegewebes wird durch die fixen Zellen und Reticullinfasern sichergestellt.

d) Das faserige Bindegewebe

Beim faserigen Bindegewebe überwiegen die faserigen Anteile bei weitem die zellulären Anteile. Je nachdem ob die Mehrheit der Fasern kollagen oder elastisch ist, sprechen wir von kollagenem oder elastischen Bindegewebe.

Beim kollagenen Bindegewebe unterscheiden wir 3 Arten:

a) Das lockere Bindegewebe.

Wir finden es im Körper häufig verbreitet, es stellt in erster Linie ein Füllgewebe des Körpers dar, ferner finden wir es immer in Begleitung von Blutgefäßen. An Zellen finden wir Fibrozyten, Histiozyten, die zur Phagozytose befähigt sind, Mastzellen, Plasmazellen und Blutwanderzellen.

b) Das dichte, ungeformte Bindegewebe.

Die Zusammensetzung ähnelt der des lockeren Bindegewebes, jedoch überwiegen die faserigen Anteile bei weitem die zellulären Anteile. Die kollagenen Fibrillen schliessen sich hier zu dicken, eng zusammengedrängten, sich überkreuzenden Kollagenfasern zusammen. Die unkoordinierte Richtung der Kollagenfasern erklärt auch den Namen geflechtartiges Bindegewebe. Zu den Kollagenfasern kommen auch hier wieder netzgebende elastische Fasern. Dieser Faserfilz bedingt die Derbheit und Festigkeit des dichten Bindegewebes. Beim Menschen finden wir es im Corium der Haut, in der harten Hirn- und Rückenmarkshaut und der Lederhaut des Auges.

c) Das straffe, parallelfaserige Bindegewebe.

Hier finden wir die kollagenen Fasern parallel angeordnet, da sie nur in einer Richtung durch Zug beansprucht werden. Das Hauptbeispiel im menschlichen Körper dafür ist die Sehne.

e) Das elastische Bindegewebe

Das elastische Bindegewebe trägt seinen Namen von den elastischen Fasern des Bindegewebes. Grundsubstanz ist jedoch auch hier das kollagenfaserhaltige Bindegewebe. Seine Anwendung findet es in elastischen Bändern, z.B. Ligamentum nuchae und elastischen Membranen, z.B. elastica in der Aortenwand.

2. Das Stützgewebe

a) Das Knorpelgewebe

Das Knorpelgewebe ist fest, aber biegsam und schneidbar. Es setzt sich zusammen aus Knorpelzellen und Interzellularsubstanz. Im Knorpel finden wir im allgemeinen keine Blutgefäße und Nerven. Je nach Bestandteil an Interzellularsubstanz unterscheiden wir 3 Knorpelgewebe: a) Hyaliner Knorpel, b) elastischer Knorpel, c) Faser- oder Bindegewebsknorpel.

Die meisten Knochen des Skeletts werden knorpelig vorgebildet.

b) Das Knochengewebe

Der Knochen ist neben Zahnschmelz und Zahnrein das härteste Gewebe des menschlichen Körpers. Er ist im Gegensatz zum Knorpel nicht mehr schneidbar und nur noch sehr wenig biegsam, dafür aber umso druck- und zugfester. Seine Härte beruht auf Einlagerungen von Kalksalzen in die Interzellularsubstanz (Calciumphosphat 85%, Calciumcarbonat 10% und Magnesium und Alkalisalze 5%). Die Einlagerung dieser Kalksalze und die meist sehr beträchtliche Dicke des Knochens schliessen die Ernährung durch Diffusion aus. Es müssen Blutgefäße aufgenommen werden. Daraus ergibt sich, daß die Interzellularsubstanz des Knochens im Gegensatz zu der des Knorpels nicht kompakt ist, sondern daß sie Räume aufweist, in denen sich Blutgefäße und Bindegewebe befinden.

1) Der Bindegewebsknochen

Der Entstehung und dem Bau gemäss ist der Bindegewebsknochen der einfachste, allerdings auch der am wenigsten verbreitete Knochen. Er entsteht unmittelbar aus dem embryonalen Bindegewebe, daher der Name Bindegewebsknochen. Zu Beginn scheiden die Mesenchymzellen Interzellulärsubstanz in die umgebende Gewebsflüssigkeit aus. Diese Zellen nennen wir Osteoblasten. Ähnlich wie bei der Knorpelbildung gliedert sich die Interzellulärsubstanz des Knochens in kollagene Fibrillen und in Kittsubstanz. Die Kittsubstanz, das Bindemittel für die Fibrillen, ist ein aus Ossealbumin (Knochenprotein) und Osseomukoid (Knochenmukopolysaccharid) zusammengesetztes Glukoprotein. Die Zahl der Osteoblasten wird durch Teilung der vorhandenen und durch das Hinzukommen anderer Mesenchymzellen vermehrt. Infolge fortschreitender Ausscheidung von Interzellulärsubstanz entstehen die vorerst noch kalkfreien Osteoidbälkchen. Diesen lagern sich Osteoblasten außen auf. Der Knochen wächst also nur durch den Anbau von außen, also appositionell. Die in den Bälkchen eingeschlossenen Osteoblasten stellen allmählich ihre Tätigkeit ein. Diese in die Interzellulärsubstanz eingeschlossenen, ruhenden Zellen sind die Knochenzellen, die Osteozyten. Noch bevor die Osteoidbälkchen fertiggestellt sind und sich zu einem Netz verbunden haben, werden schon im Innern in die bis dahin rein organische Interzellulärsubstanz Kalksalze und Magnesiumphosphat eingelagert. Die Einlagerung erfolgt nur in die Kittsubstanz, nicht in die Fibrillen. Dadurch werden die Osteoidbälkchen erst zu echten, nicht mehr schneidbaren Knochenbälkchen. Mit dem Aufbau der Knochenbälkchen geht gleichzeitig ein Umbau einher. Dieser wird von vielkernigen Riesenzellen, von Osteoklasten, besorgt. Die Osteoklasten nagen mit Hilfe von Fermenten die Knochenbälkchen an. Gleichzeitig phagozytieren sie auch Teilchen der Interzellulärsubstanz. Die Stellen, an denen Osteoklasten liegen, nachdem sie sich in die Bälkchen eingefressen haben, werden Howshipsche Lagunen genannt. Der nicht in die Knochenbildung einbezogene Rest der frühembryonalen Bindegewebshülle des Gehirns umschliesst zahlreiche ernährende und dem Stofftransport dienende Blutgefässe.

Er verdichtet sich zum Periost und Endost des Schädelknochens, von denen das Endost zugleich die harte Hirnhaut ist.

2) Ersatzknochen

Der Ersatzknochen ist hyalinknorpelig vorgebildet. Der Hyalinknorpel wird je nach der späteren Form des ihn ersetzenden Knochens angelegt. Der knöcherne Umbau des Knorpels geht von der bindegewebigen Knorpelhaut, dem Perichondrium aus. Dieses setzt sich zusammen aus einer inneren zellreichen osteogenen Kambiumschicht und einer äußeren faserreichen Schicht. Die Zellen der Kambiumschicht werden zu Osteoblasten und bauen um die Knorpeldiaphyse eine Knochenhülse. Diesen Vorgang nennen wir perichondrale Knochenbildung. Danach erfolgt der zweite Abschnitt der Ersatzknochenbildung. Die perichondrale Knochenhülse wird an einer Stelle (Einbruchsstelle) durchbrochen und Bindegewebe dringt mit Blutgefäßen in den diaphysen Knorpel ein. Zusammen mit den Gefäßen löst es den Knorpel auf. Der so beschaffene knorpelfreie Raum ist der primäre Markraum und das ihn ausfüllende Gewebe das primäre Knochenmark. Ein Teil der Bindegewebszellen wandelt sich in Chondroklasten, ein anderer in Osteoblasten um. Die Osteoblasten scheiden knöcherne Interzellularsubstanz aus, in die sie mit zunehmender Dicke der Osteoidschicht als Osteozyten eingeschlossen werden. Diesen Vorgang nennt man die enchondrale Knochenbildung. Der Bälkchenknochen erweist sich nach der Geburt, wenn er belastet wird, als nicht genügend tragfähig. Etwa vom 2. Lebensjahr an wird er laufend abgebaut. Der Neubau folgt dem Abbau unmittelbar, beide vollziehen sich vor allem am perichondral entstandenen Knochen. Der lamelläre Knochen löst den Bälkchenknochen ab. An diesem Umbau beteiligen sich das Markgewebe und das Periost, das die Stelle des Perichondriums übernimmt. Als Modelle für den Aufbau des lamellären Knochens dienen in der Längsrichtung des Bälkchenknochens verlaufende Blutgefäße. Um diese schichten die Osteoblasten Rohrmäntel aus Interzellularsubstanz. Die Osteoblasten bleiben nach beendeter Arbeit als Osteozyten zwischen den Mantelschichten liegen.

Der lamelläre Knochen wird außen und innen durch Ringlamellen gebunden. Das einzelne Knochensäulchen, das Osteon, verkörpert die Einheit des lamellären Knochens. Es gleicht einem Schachtelsystem und wird nach seinem Entdecker Haverssches Syndrom genannt. Die Grundlamellen und die Haversschen Systeme bilden die Compacta des Knochens. Das Periost (die bindegewebige Knochenhaut), hervorgegangen aus der Knorpelhaut, ist für die Erhaltung des Knochens und eine etwaige Knochenneubildung (z.B. nach Knochenbrüchen) unentbehrlich. Seine Kambiumschicht behält zeitlebens die Fähigkeit, Knochen zu bilden. Das Periost führt dem Knochen die Blutgefäße zu, jedoch keine Nerven. Die Blutgefäße durchbohren die äußeren Grundlamellen der Corticalis und verteilen sich mit Ästchen auf die Haversschen Kanäle. Die Eindringöffnungen der Blutgefäße in den Knochen nennt man Foramina nutritia.

3. Pathohistologie des Bindegewebes

In jedem Gewebe wird die Heilung eines Defektes dadurch ausgelöst, daß Fibroblasten einwachsen und eine narbige Vereinigung durch Granulationsgewebe herbeiführen. Der Heilungsprozess einer geschlossenen Fraktur läuft in folgenden Stadien ab:

1. Bildung eines Gerinnsels in dem Haematom, das die Frakturenden umgibt.
2. Einwanderung von Fibroblasten und Kapillaren in das Gerinnsel mit allmählicher Umwandlung in unreifes Bindegewebe.
3. Zelluläre Differenzierung und Proliferation von Osteoblasten, Chondroblasten und Fibroblasten mit Bildung von Osteoid mit unterschiedlich viel Chondroidmatrix. Dies ist das Stadium der Kallusbildung.
4. Ersatz des abgestorbenen Knochens von den Fragmentenden aus. Das abgestorbene Knochengewebe wird entweder absorbiert oder durch neuen Knochen ersetzt.

5. Reifung des Kallus und des Osteoidgewebes in verkalkte Knochendrabekel.
6. Knosolidierung und Modellierung des neugebildeten Knochens bei gleichzeitiger Größenabnahme der Knochenmasse.

Wenn das Frakturhaematom hauptsächlich subperiostal gelegen ist, stellt sich der gebildete Kallus im Röntgenbild glatt begrenzt dar. Wenn das Haematom abläuft, wie z.B. bei einer offenen Fraktur oder bei der chirurgischen Reposition, so kann der normale Vorgang der Frakturheilung gestört werden. Das Haematom spielt eine wichtige Rolle in den ersten Stadien der Frakturheilung, und sollte daher, soweit es möglich ist, erhalten werden. Der Reiz zur Frakturheilung ist während der ersten 2 Wochen nach dem Unfall am größten. Wenn die definitive Reposition und ausreichende Fixation für mehrere Knochen hinausgezögert werden, wird der osteogenetische Schub gestört, und es kann sich eine Pseudoarthrose bilden.

Das Ziel der Frakturheilung ist erreicht, wenn der Markkanal durch Absorption und Ersatz des zentral gebildeten Knochens, durch reife Trabekel und normales Mark wiederhergestellt ist. Bei den meisten grösseren Knochen dauert die Wiederherstellung der Längenstruktur mit Wiedererscheinen von Fett- und Markzellen etwa ein Jahr.

- T e i l B 1. Versuchsanordnung
 2. Vergleichsstudien der einzelnen
 verwendeten Materialien.

1. Die tierexperimentellen Untersuchungen wurden durchgeführt an nornehmlich weiblichen Kninchen mit einem durchschnittlichen Gewicht von etwa 3000 g - 3500 g. Die Tiere wurden von uns von dem gleichen Züchter in gutem AZ und EZ geliefert.

Operationstechnik:

Die Versuchstiere wurden entsprechend ihres Gewichtes mit 1,5 bis 3,0 ccm Nembutal i.v. in die laterale Ohrvene narkotisiert. Nach Rassur des Operationsfeldes am linken Hinterlauf wurde die Haut durch mehrmaliges abwaschen mit Merfen desinfiziert.

Anschliessend erfolgte die Abdeckung des Operationsfeldes mit sterilem Einwegmaterial.

Nach Hautschnitt wurde die linke proximale Tibia freigelegt. Dabei wurde das Periost über der Tibia in Längsrichtung gespalten und nach vorsichtiger Unterminierung mittels eines Raspatoriums nach medial und lateral abgetrennt.

Am freien Knochen gingen wir dann in drei verschiedenen Arten vor:

- a) Fräsen mehrerer hemicirculärer Knochenrillen und anschliessender Cerclagen mit den verschiedenen Versuchsmaterialien.
- b) Fräsen eines Knochenfensters mit anschliessender Fixation des erhaltenen Knochendeckels als experimentell hervorgerufenes Knochenfragment.
- c) Setzen einer partiellen oder totalen Schrägfraktur mit nachfolgender Stabilisierung durch die einzelnen Versuchsmaterialien.

- d) Fräsen eines Knochenfensters, Ausräumung der Markhöhle mit scharfem Löffel, Spülung mit Ringerlösung bzw. mit Mes-acton, Implantation der heterologen Versuchsmaterialien und anschliessende Deckung mittels Knochendeckel.

Nach der Einbringung der Materialien verschlossen wir das Operationsfeld schichtweise mit Einzelknopfnähten.

Zum Schutze der Wunde wurde nach erneuter Desinfektion Nebacetin- und Nobecutanspray aufgebracht.

Parallel zu diesen Versuchen am Knochen führten wir reine Gewebsverträglichkeitsproben der untersuchten Materialien im Subcutanen- und Muskelgewebe durch.

Nach einer durchschnittlichen Lebenszeit post operationem von 6 Wochen, wurden die Tiere ad exitum gebracht.

Nun wurden die Operationssitus primär makroskopisch auf Stabilität und achsengerechter Stellung untersucht, anschliessend wurden in unserem traumatologischen Labor der Universität München mit der AO-Knochensäge unter gleichzeitiger Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung ca. 5mm starke Knochenscheiben gewonnen und zur Anfertigung histologischer Präparate an das pathologische Institut der Universität München übersandt. Gleichzeitig entnahmen wir bakteriologische Abstriche deren Auswertung das Max von Pettenkofer Institut München übernahm. Mit den Gewebsverträglichkeitsproben wurde in analoger Weise verfahren.

Die Fotos der histologischen Schnitte wurden in dankenswerter Weise von Herrn Prof. Hebel mit einem Leitz Orthomat hergestellt.

Auswertung und Zusammenfassung eigener tierexperimenteller Untersuchungsergebnisse unter Berücksichtigung der einschlägigen Literatur.

Die verwendeten Materialien wurden überprüft auf:

a) Gewebsverträglichkeit

1) im Subcutangewebe

2) im Muskelgewebe

3) im Knochengewebe

b) auf ihre 'osteogene Potenz', d.h. auf eine vermehrte Kapillareinsprossung, auf eine Leitschienenfunktion, auf eine vermehrte Osteoblastentätigkeit.

Beschreibung der in den einzelnen Versuchen verwendeten Materialien.

a) Heterologer denaturierter Kollagenschwamm (nach Braun-Melsungen).

Das Ausgangsmaterial zu dem hier verwendeten Kollagenschwamm bildet Schweinehaut.

Diese wird zerkleinert, entfettet und durch Einwirkung von Alkali aufgequollen.

Daraufhin erfolgt eine Homogenisation der gequollenen Kollagenmasse, die dann zur Alkalientfernung dialysiert wird. Nach diesem Vorgang liegt eine Kollagenlösung vor, der eine bestimmte Menge von Alginat zugesetzt wird. Die sich hierbei ergebende Mischung wird dann in Schalen ausgegossen und durch Kombination mit Elektrolyten angereichert, wobei ein poröses Gel gebildet wird, aus dem im folgenden Arbeitsgang entsprechend große Stücke herausgeschnitten werden. Diese Stücke werden mit physiologisch unbedenklichen Gerbstoffen, wozu insbesondere aliphatische zweiwertige Aldehyde zu rechnen sind, behandelt. Durch Gerben des Kollagenschwammes werden zusätzlich intramolekulare Querverbindungen hinzugefügt, die dem Kollagenimplantat eine stärkere strukturelle Konsistenz verleihen, wodurch eine Verzögerung des Resorptionsvorganges erreicht wird. Überschüssiges Gerbmittel wird durch Wässern entfernt und die etwa ein Zentimeter dicken Schichten werden dann gefriergetrocknet. Anschliessend wird der so gewonnene Kollagenschwamm in Kunststoffbeutel eingeschweißt und durch Bestrahlen mit Gammastrahlen sterilisiert.

b) Heterologes denaturiertes Kollagenband
(nach Braun-Melsungen)

Serosalamellen vom Rind, ein Zwischenstadium bei der Herstellung von Catgut-Material, werden in feuchtem Zustand bis zur gewünschten Dicke aufeinander geschichtet, apparativ zusammengepresst und anschliessend getrocknet. Durch die in den feuchten Lamellen enthaltenen geringen Anteile löslichen Kollagens findet eine Verklebung der einzelnen Lamellen zum Band statt. Die so gewonnenen Bänder mit einer Stärke von etwa 1 mm, einer Breite von 8 mm und einer Länge von 100 mm werden schliesslich verpackt und mit Gammastrahlen sterilisiert.

c) Mes-Acton

Zusammensetzung: 1 ml enthält: 35 mg Extr. deprot.sicc.
der Hydrlysate folgender Warmblüterorgane. Glandulae
Thümi 0,125 g; Hepar 0,175g; Slen 0,3 g; Methylin/
Propylin -p-oxybenzoic (7:3) 0,001 g.

Indikation: Zur Aktivierung des RES-Systems, Steigerung
der unspezifischen Resistenz, Ca-Zusatztherapie, Alters-
und Abnutzungserscheinungen.

Die tierexperimentellen Versuche wurden an 34 Kaninchen
durchgeführt. Aus den nachfolgenden Tabellen können die
Gesamtzahl der Versuchstiere, die Anzahl der jeweiligen
Versuchsreihen mit einem bestimmten Material, die Zahl
der während der Tierversuche eingegangenen Tiere und die der
auswertbaren Tiere entnommen werden. Ferner ist aus den
Tabellen der jeweilige Implantationsort ersichtlich.

Anzahl d. laufd.Nr. verwendetes Implan- nicht aus-
Versuchstiere d.Versuchs-Material tionsort auswertbar wertbar
tiere

15	3	Kollagen- band	li.Tibia	hochgradige Entzündung	
	4	"	"	histol. kein Kollagen- band mehr nach- weisbar	
	12	"	"		+
	13	"	"	starke Infektion	
	14	"	"	starke Infektion	
	15	"	"		+
	16	"	"	Narkose +	
	18	"	"	Refraktur +	
	20	"	"		+
	29	"	"		+
	30	"	"		+
	33	"	Subcutan- Gewebe	Sepsis +	
	43	"	"		+
	44	"	Muskel- gewebe		+
	49	"	li.Tibia	Narkose +	

Anzahl der Versuchs- tiere	laufende Nr.d.Versuchs- Tiere	verwende- tes Material	Implanta- tionsort	nicht aus- wertbar	auswertbar
----------------------------------	-------------------------------------	---------------------------	-----------------------	-----------------------	------------

9	22	Kollagen- schwamm	Markhöhle li.Tibia		+
	26	"	"	Nahrungs- verweigerung +	
	27	"	"		+
	28	"	"		+
	34	"	Subcutan- Gewebe	Sepsis +	
	38	"	Muskel- Gewebe	Narkose +	
	41	"	Substango- Gewebe		+
	42	"	Muskel- Gewebe		+
	47	"	Markhöhle li.Tibia		+
10	21	Kollagen- schwamm + Mes-acton	Markhöhle li.Tibia		+
	23	"	"		+
	24	"	"	Narkose +	
	25	"	"	eitrige Osteomyelitis	
	31	"	"		+
	32	"	"		+
	35	"	Subcutan- Gewebe	Sepsis +	
	37	"	"	Abszess	
	39	"	Muskel- Gewebe		+
	48	"	Markhöhle li.Tibia	Nahrungs- verweigerung +	

Histologische Auswertung aller Versuchstiere

Es folgt nun eine kurze, stichpunktartige histologische Auswertung der hist. Schnitte, mit den Angaben, welche Versuchsanordnung benutzt und welches Material verwendet worden ist:

Versuchsnummer:

- 3 Knochenrillen mit Kollagenband. Hochgradige eitrig granulierende Entzündung mit Einschluss von verquollenen Kollagenfasern und teils aufgelösten Kollagenfasern mäßig hyperplastische Knochenneubildung (Reaktiv) - nicht zu verwerten!
- 4 Knochenrillen mit Kollagenband. Starke reaktive Knochenneubildung mit geringer chronischer unspezifischer Entzündung Kollagenband nicht sichtbar
- 12 Knochendeckel mit Kollagenband. Reaktiv hyperplastisches Knochengewebe mit Überzug durch teils stärkere chronisch fibrosierendes Entzündungsgewebe daran anschliessend zum Teil hochgradige dick granulierende Entzündung mit Fibrosierung mit Einschluss von zellfreiem gequollenen Kollagenbändern. Übergreifende Entzündung auf das Knochengewebe
- 13 Schrägfraktur Kollagenband. Reaktiv hyperplastisches Knochengewebe in Umgebung hochgradige eitrig granulierende Entzündung.
- 14 Schrägfraktur Kollagenband. Hochgradige eitrig Entzündung innerhalb eines gering hyperplastischen Knochengewebes - eitrig Osteomyelitis.
- 15 Schrägfraktur mit Kollagenband. Kräftige reaktive Knochenneubildung mit erheblicher chronischer fibrosierender Entzündung.
- 20 Schrägfraktur mit Kollagenband. Gering hyperplastisches Knochengewebe mit geringer chronischer entzündl. Reaktion.
- 29 Schrägfraktur Kollagenband. Kräftige hyperplastische reaktive Knochenneubildung mit chron. granul. Entzündung herdförmig mit Nekrosen. Viel Reaktion am Knochen.
- 30 Fraktur mit Kollagenband. Kompaktes hyperpl. Knochengewebe mit geringer chronischer Entzündung nicht viel los kein Kollagenband sichtbar.
- 43 Kollagenband subcutan. Granulierende Entzündung mit herdförmigen Plasmazellinfiltraten Kollagenband nicht erkennbar.

- 44 Kollageband i.m. Muskulatur und daran angrenzend hochgradige granulierende Entzündung mit dichter Infiltration plus eosinophiler Granulozyten und mit mehrkernigen Riesenzellen vom Fremdkörpertyp um Breite hyalinartige Bänder Kollagen wird abgebaut.
- 22 Knochendeckel Kollagenschwamm. Reaktiv hyperpl. kompaktes Knochengewebe mit stärkerer subakuter Osteomyelitis.
- 27 Knochendeckel mit Kollagenschwamm. Kompaktes Knochengewebe ohne auffälligen Befund. Schwamm nicht sichtbar.
- 28 Kollagenschwamm mit Knochendeckel. s.o. 27 und im Markraum Elemente von verquollenen Kollagenfasern.
- 41 Kollagenschwamm subcutan. Zellarmes verdichtetes Kollagenfasergewebe mit mäßiger Vaskularisierung + einzelner Skelettmuskelfasern mäßige entzündliche Reaktion (Zellinfiltration).
- 42 Kollagenschwamm i.m. Unauffällige Skelettmuskulatur kein Kollagenschwamm mehr sichtbar.
- 47 Kollagenschwamm subcutan + mesacton. Herdförmige eitrige granulierende Entzündung.
- 21 Knochendeckel mit Kollagenschwamm und Mes-acton. Skelettmuskulatur und gering hyperplastisches kompaktes Knochengewebe ausgeprägte streifenförmige chron. und granul. und fibrosierende Entzündung mit Resten von hyalinverquollener Kollagenfaser - wird abgebaut -
- 23 Knochendeckel mit Kollagenschwamm plus Mes-acton. Skelettmuskulatur und kompaktes Knochengewebe oberflächlich mäßige chron. Entzündung. Schwamm nicht mehr vorhanden!! Fragmente von Kollagenfasern reaktionslos in Markhöhle.
- 24 Knochendeckel mit Kollagenschwamm und Mes-acton. Im Markraum eine stärkere chron. granulierende und fibrosierende Entzündung chron. Osteomyelitis in der Umgebung reaktiv hyperpl. Knochengewebe - Entzündung iatrogen-!! evtl. Materialbeding.
- 31 Knochenfester Kollagenschwamm plus Mes-acton. Mäßig hyperpl. kompaktes Knochengewebe mit geringer chron. entzündl. Reaktion s.o.30

- 32 Kollagenschwamm mit Knochendeckel plus Mes-acton.
Reaktiv hyperpl. Knochengewebe.
- 37 Kollagenschwamm subcutan + Mes-Acton. Herdförmige
eitrige granulierende Entzündung.
- 39 Kollagenschwamm + Mes-Acton i.m. Skelettmuskulatur mit
Überzug durch ein mäßig breites zellarmes Kollagen-
band, das mit geringer chronischer entzündlicher
Reaktion.

Diskussion der Fälle, die nach Abschluss der Versuche nicht ausgewertet werden konnten.

4 Versuchstiere starben bereits während der Narkose, bzw. bei der Operation. Die Betäubung der Kaninchen wurde mit Nembutal (Pentobarbital Natrium) in einer Dosierung von etwa 0,5 ml = 25 mg/pro kg Körpergewicht durchgeführt. Es konnte dabei nicht geklärt werden, inwieweit diese Zwischenfälle durch allergische Reaktionen auf Nembutal bedingt waren, oder ob das unterschiedliche Alter der Versuchstiere sowie mögliche, von uns jedoch nicht diagnostizierbare Herz, Leber und Nierenerkrankungen zum Exitus führten.

3 Versuchstiere, die uns am selben Tag vom selben Züchter geliefert worden waren, starben 8 Tage post operationem an einer Sepsis. Dabei war bei keinem der Tiere ein path. Befund im Operationsbereich festzustellen, im Gegenteil, die Operationswunden waren bereits primär geheilt. So liegt die Vermutung nahe, daß diese Tiere bereits mit einer Infektion geliefert wurden und daß sie letztlich auch daran starben.

2 Versuchstiere gingen ein nachdem sie nach zuerst unauffälligem postoperativen Verlauf ca. 5 Wochen post operationem plötzlich die Nahrungsaufnahme verweigerten.

1 Versuchstier konnte nicht ausgewertet werden, weil es sich beim täglichen Auslauf 6 Wochen post operationem eine Refraktur der linken Tibia holte und dann vom Tierpfleger eingeschläfert wurde.

Die Auswertung ergab, daß ein Großteil der Versuchstiere chron. Infektionen im Operationsbereich hatte. Die kulturellen Untersuchungen erbrachten folgende Erreger:

Staphylokokkus aureus hämolyticus	4 mal
Staphylokokkus albus	3 mal
Streptokokken	1 mal
Kapsiella	1 mal
aerobe Sporenbildner	1 mal
Mikrokokkus lutens	1 mal
Achromobacter	1 mal

Da die jeweiligen Eingriffe unter möglichst sterilen Kautelen durchgeführt wurden kommen folgende Infektionsmöglichkeiten in Betracht:

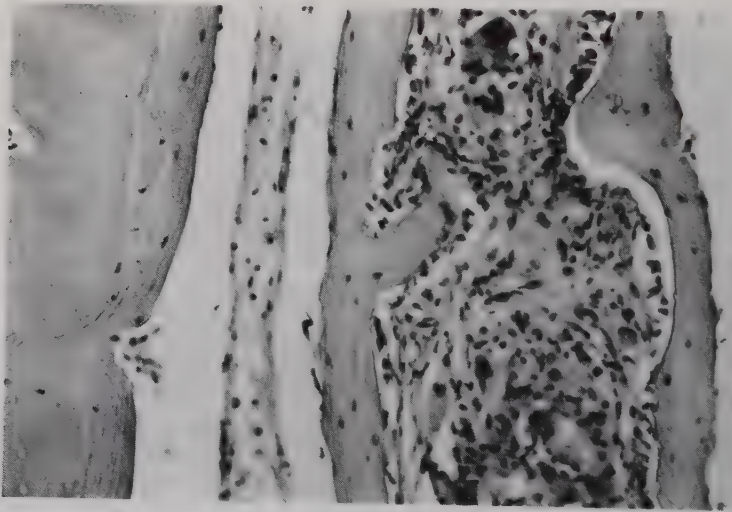
1. Infektionen, die beim Rasieren des Operationsgebietes durch Microverletzungen gesetzt wurden,
2. Infektionen, die von Erregern die sich in der Luft befanden, herrühren. Der Operationsraum war im Tierstall, Luftfilter, Luftumwälzanlagen oder UV-Filter waren nicht vorhanden.
3. Infektionen, die vom eingebrachten Material stammen,
4. Infektionen, die durch unaufmerksames Operieren entstanden sind.

Bei all unseren Versuchen verwendeten wir keine Antibiotika. Die wissenschaftliche Diskussion über die Frage, ob es sinnvoll ist schon präoperativ Antibiotika zu verwenden ist noch nicht abgeschlossen. Eine lokale Antibiotikatherapie während der Operation wurde nicht versucht und Antibiotika im Einzelfall bei postoperativer Infektion konnten nicht gegeben werden, da sie die Ergebnisse verzerrt hätten und die Arbeit dann nicht mehr aussagekräftig gewesen wäre.

Einzelergebnisse und histologische Bilder

Um die Stärke der Knochenneubildung bei der Verwendung der Versuchsmaterialien vergleichen zu können, führten wir gleichzeitig noch Versuche der Frakturbehandlung mit der Drahtcerclage durch. Anhand einiger Fälle und deren histologischer Auswertung sollen nun die Einzelergebnisse aufgezeigt werden.

Bild Nr. 4

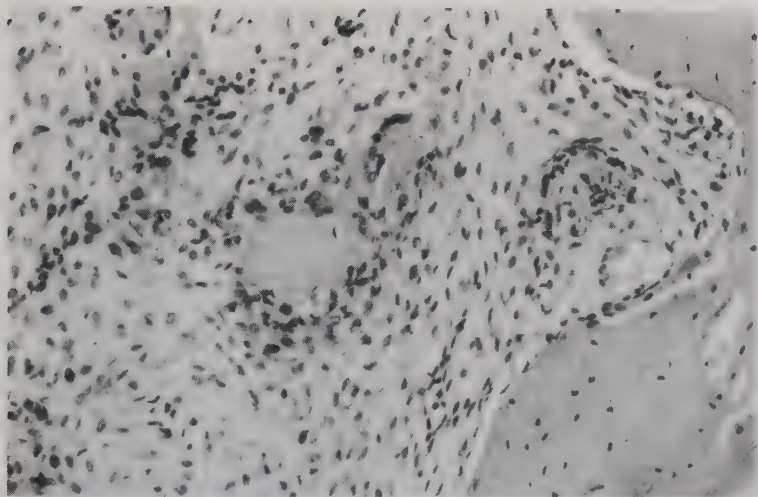


Versuchsanordnung:

Fräsung zirkulärer Knochenrillen an der linken proximalen Tibia des Kninchens; zirkuläre Umschlingung mit Kollagenband. 8 Wochen post operationem finden wir eine starke reaktive Knochenneubildung. Das Kollagenband ist bereits völlig abgebaut worden.

Färbung: HE

Vergrößerung: 220 fach
2,2 cm = 0,1 mm



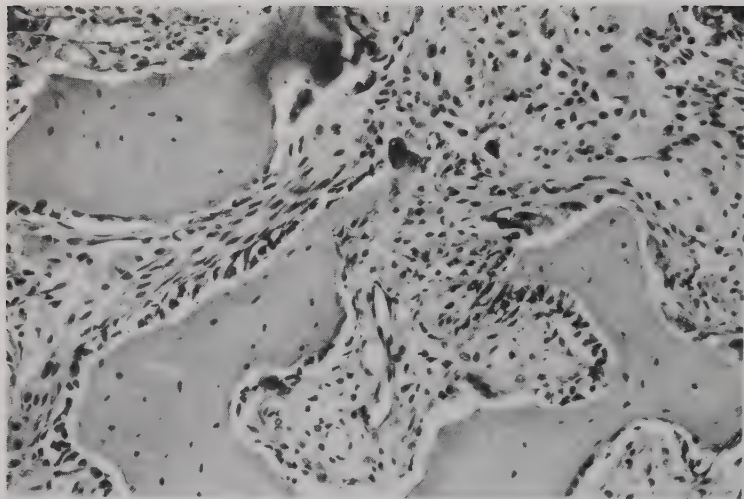
Versuchsanordnung:

Schrägfraktur an der proximalen linken Tibia des Kninchens;
anschliessend Stabilisierung durch Kollagenband, das im Fraktur-
bereich zirkulär um den Knochen gelegt und mit Einzelnähten
unter Spannung vernäht wird. 4 Monate post operationem finden
wir eine kräftige reaktive Knochenneubildung mit reger Osteo-
blastentätigkeit. Der Umfang der Knochenneubildung geht weit
über das bei der Drahtcerclage erzielte Maß hinaus.

Färbung: HE

Vergrößerung: 220 fach

Bild Nr. 29



Versuchsanordnung:

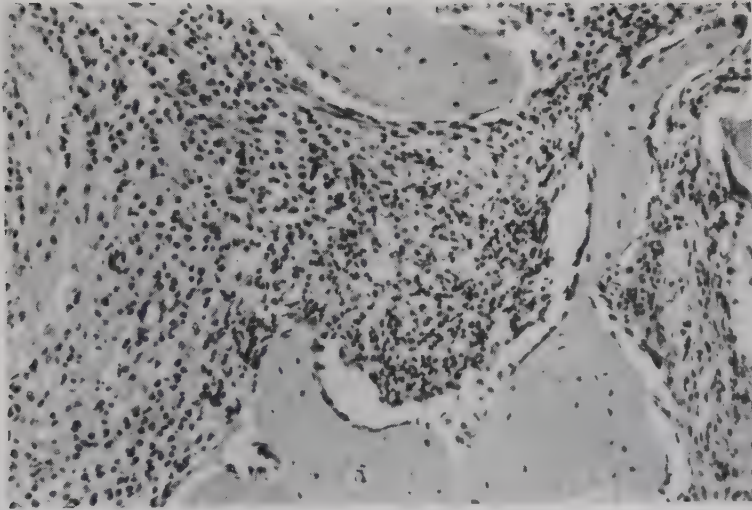
Schrägfraktur an der proximalen li. Tibia des Kaninchens;
anschliessende Stabilisierung durch Kollagenband, das im
Frakturbereich zirkulär um den Knochen gelegt und mit Einzel-
nähten, unter Spannung vernäht wird. 7 Wochen post operationem
finden auch hier eine mit Versuch Nr. 15 vergleichbare kräftige
reaktive Knochenneubildung.

+wir

Färbung: HE

Vergrößerung: 220 fach

Bild Nr. 22



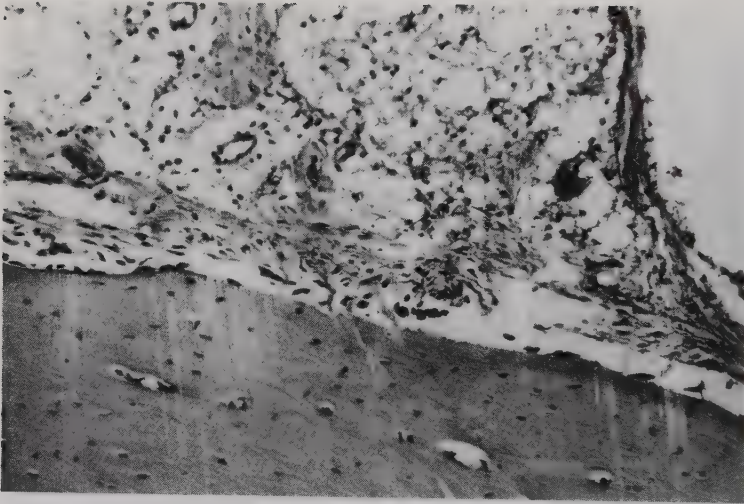
Versuchsanordnung:

Fräsung eines Knochenfensters an der proximalen linken Tibia des Kaninchens. Auskratzen des Markraumes mit scharfem Löffel; anschliessende formschlüssige Implantation von Kollagenschwamm in die Knochenhöhle und nach Einlegen des vorher entfernten Knochendeckels schichtweiser Wundverschluss. 11 Wochen post operationem finden wir reaktiv hyperplastisches kompaktes Knochengewebe.

Färbung: HE

Vergrösserung: 220 fach

Bild Nr. 21



Versuchsanordnung:

Fräsung eines Knochenfensters an der proximalen Tibia des Kaninchens. Auskratzen des Markraumes mit scharfem Löffel. Anschliessende formschlüssige Implantation von Kollagenschwamm und Mes-acton in die Knochenhöhle und nach Einlegen des vorher entfernten Knochendeckels schichtweiser Wundverschluss. 4 Wochen post operationem finden wir nur gering hyperplastisches kompaktes Knochengewebe. In Bildmitte noch Reste von hyalinverquollener Kollagenfaser (Kollagen wird abgebaut).

Färbung: HE

Vergrösserung: 220 fach

Auswertung und Zusammenfassung der eigenen tierexperimentellen Untersuchungen unter Berücksichtigung der einschlägigen Literatur.

Unsere Untersuchungen dienten der Klärung der Frage, ob sich heterologes denaturiertes Kollagen als Schwamm zur Implantation in die aseptische Knochenhöhle eignet und in wie weit sich mit dem Kollagenband vom Rind eine Stabilisierung von Knochenbrüchen und eine Fixierung von Bruchstücken erreichen lässt.

Bei unseren Verträglichkeitsproben, die wir mit dem zu untersuchenden Material im Subcutan- und im Muskelgewebe durchführten, stellten wir fest, daß das heterologe denaturierte Kollagen reizlos einwächst. Im Weichteillager finden wir eine ausgeprägte Bildung von Granulationsgewebe, das rasch zur Neubildung von Bindegewebe führt. Fibroblasten und Histiozyten scheinen dabei das Implantat als eine Art Klettergerüst zu benutzen. Im Versuch ließen sich hinsichtlich der Schnelligkeit und der Problemlosigkeit des Einwachsens der Implantate keine großen Unterschiede zwischen dem heterologen Kollagenband, das aus Serosalmellen des Rindes bestand, und den Kollagenschwamm, der aus der Haut des Schweines stammte, feststellen.

Bei dem verwendeten heterologen denaturierten Kollagen zeigte sich keinerlei Antigen- Antikörperreaktion. Dieser Erfolg deckt sich mit den Ergebnissen von K.H. KNOLL und H.C. FRIEDRICHS, die in ausgedehnten Versuchsreihen die Immunreaktionen auf Kollagen Implantate untersucht haben und keine Serumantikörper gegen Kollagen nachweisen konnten.

Am frakturierten Knochen des Kaninchens konnten wir mit dem heterologen denaturierten Kollagenband, das uns in einer Stärke von 1 mm und einer Breite von ca. 8 mm zur Verfügung stand keine zufriedenstellende Stabilisierung erreichen. Zu diesem Zwecke erschien das untersuchte Band zu schwach. Außerdem ergaben sich Schwierigkeiten beim Vernähen des Bandes, da die Reißfestigkeit mit zunehmender Durchfeuchtung nachliess und der zur Stabilisierung nötige Druck sich daher nicht erreichen liess. Wir konnten aber nachweisen, daß sich Bruchstücke gut mit dem verwendeten Material fixieren lassen. Es kam hierbei zu einer kräftigen reaktiven Knochenneubildung. Bei unseren Versuchen mit Knochenrillen in die wir Kollagenband einbrachten zeigte sich Granulationsgewebsbildung, die das Band als eine Art Leitschiene zu benutzen schien.

Bei der Implantation von heterologem denaturiertem Kollagenschwamm in die aseptische Knochenhöhle des Kninchens konnten wir histologisch eine kräftige reaktive Knochenneubildung feststellen. Gerade bei der Verwendung im ersatzstarken Knochenlager (W.AXHAUSEN, MAATZ, PHEMISTER u.a.) d.h. beim Knochen mit noch vorhandenem Periost bzw. in der Knochenhöhle mit noch vorhandener Spongiosa, wie wir es in der aseptischen Knochenhöhle, z.B. nach Ausräumung von Zysten oder gutartigen Geschwülsten oder nach Entnahme autologer Spongiosa vorfinden, konnten wir feststellen, daß das Implantat rasch vaskularisiert wurde und daß das durch lytische Fermente abgebaute Kollagen einen starken Reiz auf die Osteogenese ausübt. Es scheint, daß sich durch entsprechende Gerbeverfahren die Abbauphase des Implantats regeln und damit günstig für die Knochenneubildung terminieren lässt.

Die Verwendung von Mes-acton, das wir zugleich mit den heterologen denaturierten Kollagenschwamm in die aseptische Knochenhöhle implantierten erwies sich als vorteilhaft. Im Vergleich zur Implantation von reinem Kollagenschwamm zeigte sich kein Unterschied in Geschwindigkeit und Ausmaß der Knochenneubildung. Eine durch die Verwendung von Mes-Acton bedingte vermehrte Zahl der RES-Zellen liess sich histologisch nicht feststellen. Zusammenfassend ergeben sich aus unseren tierexperimentellen Untersuchungen am aseptischen Knochen des Kaninchens unter Verwendung von Kollagenband, Kollagenschwamm und Kollagenschwamm mit Mes-acton folgende Vorteile:

1. Mit dem aus Rinderserosa hergestellten heterologen denaturierten Kollagenband lassen sich einzelne Knochenfragmente sehr gut fixieren.
2. Knochenhöhlen, seien sie traumatisch oder zystisch-tumorös bedingt, sollten nach gewissenhafter Reinigung mit einem geeigneten Füllmaterial formschlüssig restlos aufgefüllt werden. Zur Füllung dieser Knochenhöhlen stellt der heterologe denaturierte Kollagenschwamm ein geeignetes Material dar das in immer gleichbleibender Qualität und unbegrenzter Quantität zur Verfügung steht.
3. Der heterologe denaturierte Kollagenschwamm dient dem einsprossenden Granulations- und Bindegewebe auf Grund seiner porösen Struktur als eine Art Leitschiene. Dadurch erfolgt in der Knochenhöhle eine schnelle Bindegewebs- und Knochenneubildung. Das implantierte Material wird dabei proteolytisch abgebaut.
4. Eine Antigen-Antikörperreaktion des implantierten Materials liess sich bei unseren Versuchen nicht feststellen.
5. Eine primäre Wundversorgung der Implantationsstelle erscheint uns als sehr wünschenswert um einer exogenen Mischinfektion vorzubeugen.

Neben diesen Vorteilen des heterologen denaturierten Kollagenes in seinen unterschiedlichen Aufbereitungsarten sollen aber auch die Nachteile, die sich während unserer tierexperimentellen Untersuchungen ergaben, hier aufgeführt werden.

- 1 . Das verwendete heterologe Kollagenband war nicht kräftig genug um Frakturen ausreichend zu stabilisieren. Eine Übungs- und Bewegungsstabilität liess sich damit nicht erreichen.
- 2 . In der jetzigen Form bezüglich der Stärke, der Breite und der Starrheit des heterologen Kollagenbandes ergaben sich manchmal technische Schwierigkeiten bei der Fixierung von Knochenbruchstücken.
3. Die Verwendung von Mes-acton in Verbindung mit dem heterologen denaturiertem Kollagenschwamm als Implantat in die aseptische Knochenhöhle zeitigte keine besseren Ergebnisse als die Anwendung des reinen Kollagenschwammes.

Diskussion

Das Ziel unserer tierexperimentellen Arbeit am Kaninchen lag darin zu erforschen und zu publizieren, in welchem Umfang sich heterologes denaturiertes Kollagen als Implantat in die aseptische Knochenhöhle, wie wir sie z.B. nach Ausräumung eines gutartigen Knochentumors oder nach Entnahme autologer Spmgiosa vorfinden, eignet. Um die zu ermitteln stellten wir ausgedehnte Versuche an Kaninchen an. Wir verglichen die aus den Versuchen resultierende Granulationsgewebebildung, die Bindegewebs- und Knochenneubildung anhand histologischer Schnitte miteinander und erprobten die Verträglichkeit des Materials auch indem wir es intramuskulär und subcutan implantierten. Die Frage war, wie das implantierte Fremdmaterial tierischen Ursprungs vom Organismus aufgenommen und verarbeitet würde. Von vielen, namhaften Autoren wurde bewiesen, daß die Regeneration von Knochen und die Knochenneubildung abhängen von einer Vielzahl von biochem. Reaktionen, die, voneinander abhängig, sich gegenseitig fördern, hindern und z.T. mit Rückkoppelungsmechanismen steuern. Es war nun zu klären, ob sich ähnliches Stoffwechselverhalten auch bei der Verwendung von heterologem denaturiertem Kollagen als Implantat ergibt.

Wir konnten histologisch nachweisen, daß das implantierte Kollagen mit Hilfe proteolytischer Fermente durch Zellen des reticulo-endothelialen Systems, durch Macro- und Microphagen langsam abgebaut wurde. Gleichzeitig konnten wir feststellen, daß durch Osteoblasten eine kräftige, reaktive Knochenneubildung erfolgte.

Um den Wert eines Implantates in die aseptische Knochenhöhle beurteilen zu können, muß man verschiedene Kriterien untersuchen.

1. Heilt das Implantat komplikationslos an der Implantationsstelle ein?
2. Verfügt das Implantat über eine osteogene Potenz?

Um die erste Frage zu klären, führten wir Verträglichkeitsproben mit dem Material im subcutanen Binde- und Muskelgewebe durch. Dabei zeigte es sich, daß die Implantate reizlos einheilten. Anhand zahlreicher Arbeiten (CHVAPIL, SEIFFERT, PEACOCK, WANKE) darf man davon ausgehen, daß das heterologe denaturierte Kollagen keine cancerogenen Eigenschaften besitzt. Ein zweites Problem war die Frage, ob und inwieweit das untersuchte Material antigenen Eigenschaften besitzt und Antigen-Antikörperreaktionen hervorzurufen vermag. Hier sind die Ansichten sehr unterschiedlich. ROTHBART und WATSON haben eine Antigen-Antikörperreaktion des denaturierten Kollagens in ausgedehnten Untersuchungen mit Hilfe von fluoreszierenden Antikörpern nachgewiesen. WAKSMAN lehnt eine Antigenität des Kollagens ab. Unterschiedlich ist auch die Bewertung der Frage, welche biochemischen Bestandteile des untersuchten Materials die Antigen-Antikörperreaktion hervorrufen. So behauptet z.B. GROSS, daß die antigene Wirkung nicht kollagenspezifisch sei, sondern, daß sie von der Verunreinigung des Materials mit Serumproteinen stamme und eiweißgebunden sei. Diese Theorie wird auch von STEFFEN und seinen Mitarbeitern gestützt, die berichten, daß es erhebliche immunologische Unterschiede zwischen den einzelnen Kollagenarten gebe. Sie machen eine, wenn überhaupt vorhandene Antigenität vom Sitz des Bindegewebes, aus welchem das Kollagen stammt, abhängig.

Das hier untersuchte Kollagen stammt aus der Haut des Schweines und der Serosa des Rindes. Vom Catgut, dessen Vorstufe die Serosalamellen sind, weiß man schon lange, daß es keine Antigenität besitzt. HARDIUS konnte bei Hauttransplantationen nachweisen, daß das Absterben der verwendeten Transplantate durch die Aktivierung der proteolytischen Fermente der Haut bedingt ist, die wiederum eine Folge einer Antigen-Antikörperreaktion ist. SEXSMITH wie nun nach, daß gerade der Gehalt an proteolytischen Fermenten aus der Haut von ausgewachsenen Schweinen, wie sie zur Herstellung des Kollagenschwammes verwendet wird, sehr gering ist und sogar erheblich geringer als der der menschlichen Haut ist. PEACOCK und Mitarbeiter konnten bei tierexperimenteller und klinischer Arbeit mit Kollagenimplantaten keine kollagenspezifischen Antikörper im Serum nachweisen. Auch die umfangreichen immunologischen Untersuchungen von Kollagenfolien an Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen von K.H. KNOLL und H.C. FRIEDRICH ergaben keinen Anhalt für die Antigenität des Kollagens und die damit verursachten Antigen-Antikörperreaktionen. Diese Ergebnisse konnten wir bei den von uns durchgeführten Versuchen mit der Implantation von heterologem denaturiertem Kollagen nur bestätigt finden. PEACOCK und Mitarbeiter haben umfangreiche Untersuchungen an Kollagenimplantaten durchgeführt. Sie bezeichnen es als ein vielseitiges Fremimplantat. Sie waren es auch, die wesentliche Unterschiede zwischen Kollagenen, die aus Knochen und Kollagenen, die aus Weichteilen, wie z.B. der Haut, dem Darm oder aus der Leber gewonnen werden, herausfanden. So wird nämlich das Knochenkollagen, bedingt durch die starken Querverbindungen zwischen den einzelnen Ketten, in weitaus geringerem Umfang resorbiert als das Kollagen.

Ein weiterer wichtiger Punkt war die Frage, woher die für die Knochenneubildung notwendige Energie stammt. Bei der physiologischen Knochenneubildung wird die Energie im oxybiotischen Stoffwechsel bereit gestellt. Dieser oxybiotische Stoffwechsel ist im Granulationsgewebe am stärksten ausgeprägt und läßt dann abgestuft im Binde- und im Knochengewebe nach.

Eine Fasergewebsbildung oder auch eine Knochengewebsbildung ist nach den Erforschungen von BASSETT unter hypoxischen Bedingungen undenkbar. Nach der Implantation von heterologem denaturiertem Kollagenschwamm fanden wir eine rasche und heftige Bildung von Granulationsgewebe. Wir dürfen davon ausgehen, daß auch in diesem Granulationsgewebe, das sich auf dem Boden des heterologen denaturierten Implantate entwickelt hat, ein ausreichender oxybiotischer Stoffwechsel herrscht, der eine Knochenneubildung zusätzlich stimuliert. Eine Knorpelbildung konnten wir bei der histologischen Auswertung unserer Versuche nicht feststellen.

Ein zusätzlicher, wesentlicher Stimulus für die Osteogenese ist, wie schon seit langem bekannt, und von vielen namhaften Autoren beschrieben, der mechanische Reiz auf die Bruchstelle, der durch die sog. Anfrischung der Bruchenden, wie sie beim operativen Vorgehen heute üblich ist, erzeugt wird. Wie wird nun das heterologe denaturierte Kollagenimplantat vom Wirtsorganismus weiterverarbeitet? Hier finden wir in der einschlägigen Literatur, die sich mit den Problemen der Implantation des Materials befasst, ein Schema, wonach von den Implantaten fünf Phasen durchlaufen werden.

1. Die Phase der Proteolyse des Implantates mittels unspez. und spezifischer Fermente.
 2. Die Phase der Zellvermehrung und Zellanhäufung.
 3. Die Phase der Mucopolysaccharidbildung (Osseoalbumid-Osseomucoid der Osteoblasten).
 4. Die Phase der Kollagen-Protein-Bildung.
 5. Die Phase der Ossifikation mit Einlagerung von Apatitkristallen.
- Bereits wenige Stunden nach der Implantation des heterologen denaturierten Kollagens wandern Macro- und Microphagen in das Implantat ein (HAMPERL, LUHR und ROGGA TZ). Sie besetzen dabei das blutgetränkte Kollagen, das das Eindringen durch seine poröse Struktur noch erheblich erleichtert. Diese Zellen des reticuloendothelialen Systems beginnen nun damit, unter Zuhilfenahme ihrer Kollagenasen, das Implantat langsam abzubauen. Dadurch entstehen Proteinabbauprodukte, die bioch. und pharmakologisch wirksam sind, und deren Metaboliten entzündungserregend wirken.

Diese anfängliche seröse Entzündung geht dann in eine serös-zellige Entzündung über, die wir am Beginn einer jeden Wundheilung vorfinden. Dabei ist es wichtig, daß diese Entzündung ohne eine Zufuhr von Erregern von außen und eine Antigen-Antikörperreaktion vonstatten geht. Die Abbauprodukte des heterologen denaturierten Kollagenimplantates werden dann von den Macro- und Microphagen aufgenommen. In das nun schon partiell abgebaute Gerüst beginnt neugebildetes Granulationsgewebe einzusprossen. Von Bedeutung ist dabei das bestehende Gewebsmilieu, das durch die Phagozytentätigkeit entstanden ist und das die Immigration und die Aktivität der ortsständigen Fibroblasten erleichtert. Dies bewirkt eine vermehrte Fasergewebs- und Mucopolysaccharidbildung. GUSEK, GIESEKING, HARTMANN haben in ihren Untersuchungen nachgewiesen, daß bei einer Reizung des Gewebes neben den bereits vorhandenen Histiozyten eine beträchtliche Zunahme von Macrophagen festzustellen ist. Es handelt sich hierbei um Fibroblasten oder Endotelzellen, die sich in Fibroblasten umwandeln können.

Die Aufgabe der Fibroblasten besteht hauptsächlich in der Bildung der Grundbausteine für die kollagenen Fasern, das heißt in der Proteinsynthese, die intrazellulär stattfindet. DUNPHY und UDUPA unterscheiden bei der Bindegewebsneubildung der Wundheilung zwei Phasen. Die erste Phase ist die der Mucopolysaccharidbildung. Sie dauert vom ersten bis zum fünften Tag nach dem traumatischen Ereignis, wobei es bereits innerhalb der ersten 24 posttraumatischen Stunden zu Mucopolysaccharidbildung kommt. Die zweite Phase ist die der Kollagenproteinbildung. Sie beginnt am fünften posttraumatischen Tag und hält bis zum völligen Abschluss der Wundheilung an. Etwa am achten posttraumatischen Tag können wir eine erhebliche Vermehrung der kollagenen Fibrillen feststellen. Die Fibrillen gehen dann in eine Art Reifungsprozess über, der schliesslich mit der Ausbildung einer Narbe sein Ende findet. Bei unseren Verträglichkeitsproben mit dem heterologen denaturierten Kollagen, die wir im Subcutan- und im Muskelgewebe durchgeführt haben, konnten wir ebenfalls eine Einwanderung von Macro- und Microphagen feststellen, die langsam das Implantat fermentativ abzubauen begannen. Auch hier kam es durch die Fibroblasten zu einer raschen Bindegewebsneubildung.

Die heterologe Auswertung unserer tierexperimentellen Untersuchungen an der aseptischen Knochenhöhle des Kaninchens ergaben nun folgendes mikroskopisches Bild. In der Mitte der Knochenhöhle fanden wir Reste von hyalinverquollenem, noch nicht abgebautem Kollagenschwamm. Um ihn herum zeigt sich vielzelliges Granulations- und Bindegewebe, während sich am Höhlenrand bereits neugebildeter Knochen erkennen lässt. JOUNG, TONNA u.a. haben nachgewiesen, daß bei der Knochenbildung in einer Knochenhöhle neben den Osteoblasten noch weitere Zellen mitwirken, die sich aus mesenchymalen und reticulären ZELLEN entwickeln können. Die Knochenneubildung durch die Osteoblasten verläuft in mehreren Schritten. Zuerst wird das sog. Osteoid, die nicht mineralisierte Knochensubstanz gebildet, die weich und formbar ist. Dann wird die Mineralisation d.h. das Einlagern von Apatitkristallen eingeleitet, die erst dem Knochen seine Druck- und Schärfefestigkeit verleiht. Die Mineralisation hängt vorwiegend von zwei Faktoren ab. Erstens vom Vorhandensein des Kollagens und seiner Mucopolysaccharide, zweitens von der Konzentration der Calcium- und Phosphationenlösungen. Das Kollagen bildet nun eine Matrix, in die dann Calcium und Phosphat als Calciumphosphat und Calciumkarbonat eingelagert werden.

Vergleicht man nun die Literatur über die verschiedenen autologen Implantate wie Spongiosa, Knochenspäe (ALLGOWER, GRUNDMANN, und MATTI) und den homologen Bankknochen (EHALT) und die heterologen Implantate wie Kieler Hartspan und Kieler Spongiosa (MAATZ, BAUMEISTER) mit dem von uns untersuchten Material, dann kommt man zu dem folgenden Schluss: Nach wie vor scheint die autologe Spongiosa das am besten geeignete Material zur Auffüllung von Knochenhöhlen zu sein. Ihre Vorteile liegen in einer hohen osteogenen Potenz, im sicheren Einwachsen und, bedingt durch die Tatsache, daß auch RES-Zellen mit dem Implantat übertragen werden, in ihrer Anwendbarkeit auch bei infizierten Höhlen. Dabei wiegen ihre Nachteile, nämlich die nicht immer formschlüssige Auffüllung von Knochenhöhlen und die nur begrenzte Verfügbarkeit nicht so stark. Mit den anderen, oben erwähnten homologen und heterologen Implantation darf man den Kollagenschwamm sicher auf die gleiche Stufe stellen. Seine Vorteile liegen in seiner osteogenen Potenz, in seiner guten Verträglichkeit, in der immer

gleichbleibenden Qualität und in der praktisch unbegrenzt verfügbaren Menge. Auch die formschlüssige Auffüllung von Knochenhöhlen lässt sich mit dem Kollagenschwamm gut durchführen. Das gute experimentelle Ergebnis unserer Untersuchungen trug mit dazu bei, daß das Material jetzt im klinischen Bereich seine Anwendung findet.

Zusammenfassung:

Das Ziel der hier vorgelegten tierexperimentellen Arbeit bestand darin zu erforschen in welchem Umfang heterologes denaturiertes Kollagenband zur Stabilisierung von Knochenfrakturen und zur Fixierung von Knochenfragmenten zu verwenden ist. Gleichzeitig wurde untersucht inwieweit sich heterologer denaturierter Kollagenschwamm zur Implantation in die aseptische Knochenhöhle eignet. Dabei war es von Bedeutung ob mit dem heterologen Kollagen eine vermehrter Reiz auf die Bildung von Granulations-, Binde- und Knochengewebe zu erzielen ist. Um Vergleichsmöglichkeiten zu haben stellten wir auch Versuche mit Drahtcerclage an. Zuerst stellten wir im Rahmen unserer 50 Tierversuche eine Vergleichsstudie über die Verträglichkeit des untersuchten Materials im Sucutan- und Muskelgewebe an. Daran anschliessend versuchten wir Schrägfrakturen zu stabilisieren und Knochenstücke zu fixieren. In die aseptische Knochenhöhle des Kaninchens implantierten wir Kollagenschwamm und untersuchten dann die osteogene Potenz des verwendeten Materials. Außerdem verwendeten wir noch Mes-acton plus Kollagenschwamm zur Implantation, um zu sehen, ob sich dadurch eine noch schnellere Bindegewebs- und Knochenneubildung erzielen liesse.

Unsere tierexperimentellen Untersuchungen brachten folgende Ergebnisse:

1. Mit Hilfe des heterologen denaturierten Kollagenbands liess sich keine zufriedenstellende Stabilisierung von Frakturen erreichen. Wir erreichten jedoch eine gute Fixierung von Bruchstücken mit einer raschen Bildung von Binde- und Knochengewebe.
2. Bei der Implantation von heterologem denaturiertem Kollagenschwamm in die aseptische Knochenhöhle erreichten wir ebenfalls eine rasche Bildung von Knochengewebe. Die Porösität des verwendeten Materials scheint wie eine Leitschiene die Einsprossung von Kapillaren zu begünstigen.
3. Die Verwendung von Mes-acton plus Kollagenschwamm als Implantat zeigte nicht die erwünschten Erfolge. Die Ergebnisse waren nicht besser als die bei der Verwendung des reinen Kollagenschwammes.

4. Eine Antigenität des verwendeten Materials konnte nicht festgestellt werden.
5. Der Abbau des Kollagens erfolgt durch spezifische und unspezifische proteolytische Fermente.
6. Es wäre zu überlegen, ob man das Implantat mit einem Antibiotikum applizieren sollte.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

Allgemeiner Teil

- BARGMANN, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie
des Menschen
5. Auflage
Stuttgart: Thieme 1964
- BRAUN, B.: Kunststoffe in der Medizin
Chem. Industrie 11 (1959)
- COMPARE, C.L.
BAUCH, S.W.: in: Frakturbehandlung
Stuttgart: Thiemeverlag 1960
- LINDNER, J.: in: Binde- und Stützgewebe
Darmstadt: Steinkopff 1966
- NEUBERGER, A.: Stoffwechsel von Kollagen unter
normalen Bedingungen
Symo.Soc. Exp. Biol. 9 (1955) 72
- SCHWARZ, W.: In Bartelheimer, H.:
Binde- und Stützgewebe
Darmstadt: Steinkopff 1966
- STRAUBESAND, G.: In: Bartelheimer, H.:
Binde- und Stützgewebe
Darmstadt: Steinkopff 1966
- WALLRAFF, J.: Leitfaden der Histologie des Menschen
München, Berlin, Wien: Urban & Schwarzenberg
1967

Spezieller Teil

- ADLER R.H. and
DOUBY C.: Use of a porous sponge(jvalon) in
surgery.I. Tissue reponses after implanta-
tion. U.S. Armed Forced Med. J. 11 (1349(1960)
- ALLGOWER, M.: The cellular basis of wound repair
Springfield: Thomas 1956
- ALLGOWER, M.: Osteosynthese und primäre Knochenheilung.
Langenbecks Archiv. Klin. Chir. 308
(1964) 423
- BATTISTA, A.F.: The reaction of various tissues to
implants of a collagen derivate Canad.J.Res.
E 27, 94 (1949).
- BLOCK, W.: Die Bedeutung mechanischer Faktoren
bei der Knochenbruchheilung
Arch. Klin. Chir. 196 (1939) 557
- CHVAPIL M.
KRAJICEK M.: Die Analyse einiger theoretischer Probleme
bei der Verwendung von Erzeugnissen des
Kollagens in der Medizin
Langenbecks Archiv Klin. Chir. 318
(1967) 80
- CHVAPIL, M.: Physiologie of connective tissue
London Butterworth 1967

- GROSS, N.J.: Studies on the biology of connective tissue remodelling of collagen in metamorphosis
Medicine 43 (1964) 291
- GROSS, N.J.
F.O. SCHMITT Structure of human skin collagen as studied with the electron microscope
J.Exp.Med. 88 (1948) 555
- GUSEK, W.: In: Binde- und Stützgewebe
Darmstadt: Steinkopff 1966
- HAMPERL, H.
H. LUHR: Die "Kollagenplombe"
1. Implantation rekonstruierter Fasern
Klin. Wschr. 42 (1964) 12
- KÜHN, K.: Die Biochemie des Kollagens
Melsungen Med. Mit. 41 (1967) 7
- LEXER, E.: Die pyogenen Infektionen und ihre Behandlung
Stuttgart: Erbe 1936
- LONGMIRE, W.P.jr.: Homologous transplantation of tissues; clinical aspects
J. Nat.Concer Inst. 14 (1953) 669
- MATTI, H.: Knochenbrüche und ihre Behandlung
Berlin, Springer 1928

- PEACOCK, E.E. jr.: Inter- and intramolecular binding in collagen of Healing wounds by insertion of methylene and amide cross-links into scar tissue Tensile Strength and thermal shrinkage rats.
Ann. Surg. 163 (1966) 1
- PHEMISTER, D.B.: Bone growth and repair.
Ann. Surg. 102 (1935) 261
- ROGGATZ, J.: Die Kollagenplombe (Homo- und Ketero-transplantation rekonstruierte Fasern)
Klin.Wschr. 43 (1965) 111
- ROTHBARD, S.
WATSON R.F.: Antigenity of rat collagen. Demonstration of antibody to rat collagen in the renal glomeruli as an etiologic factor in intervascular thrombosis.
Amer. J.Physiol. 175 (1953) 103
- SCHOENE, G.: Die heteroplastische und homoioplastische Transplantation
Berlin: Springer 1912
- SEGMÜLLER, G.: Spongiosaregeneration in der Millpore-kammer
Helv. Chir.Acta 34 (1967) 5

SEIFFERT, K.E.:

Über die biologischen Eigenschaften
konservierter Sehnen im Tierversuch
und ihrer klinischen Anwendung
Melsungen Med. Mitt. 41 (1967) 75

STEFFEN, C.,

TEPL, R.

WOLFF, I.

FURTNMAYR, H.

WICK, G.:

Immunbiologie und Immunpathologie des
Kollagens

Melsungen Med. Mitt. 41 (1967) 27

TARSOLY, E.:

TOMORY, I.:

Über die Heilung von mit körperfremder
Substanz ausgefüllten Knochenhöhlen
im Tierversuch

Acta Chir. Acad.Sci. Hungarie 4 (1963)
367

UDUPA, K.N.

WOESSNER, I.F.

DUNPHY, E.:

The effect of methionine on the
production of mucopolysaccharides and
collagen in healing wounds of protein-de-
pleted animals.

Surg. Gynec. Obstetr. 102 (1956) 639

LEBENS LAUF

Am 14. April 1946 kam ich als Sohn des praktischen Arztes Dr. Robert Bauer und seiner Frau Gertrud, geb. Dex in Birnbach zur Welt.

Ab September 1962 besuchte ich die Volksschulen Rohrbach/Ilm und Vohburg/Donau. Im September 1966 kam ich auf das Human. Gymnasium Ingolstadt /Donau. 1966 legte ich am Carl von Linde Gymnasium in Kempten/Allgäu die Reifeprüfung ab.

Im Herbst 1966 ging ich als Zeitsoldat (Z 4) zur Bundeswehr, die ich 1970 als Leutnant der Reserve verließ.

Zum Wintersemester 1971/72 bekam ich die Zulassung zum Studium der Humanmedizin an der Ludwig Maximilians Universität in München. Nach dem Vorphysikum im Herbst 1972 und dem Physikum im Frühjahr 1973 bestand ich im Frühjahr 1976 die ärztliche Prüfung mit der Note sehr gut.

Am 8.10.75 heiratete ich meine Frau Andrea, geb. Graf, die seit 1975 Studienrätin für Englisch und Französisch bei der Stadt München ist.

Ich habe noch 3 Geschwister. Meine Medizinalassistentenzeit leistete ich in München im Krankenhaus der Barmherzigen Brüder und in der Riefler-Klinik ab.

